

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ОРЕНБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

**Методические рекомендации для
самостоятельной работы обучающихся по дисциплине**

Б1. В.ОД.4.1 Вирусология

Направление подготовки (специальность) 36.06.01 Ветеринария и зоотехния
(уровень подготовки кадров высшей квалификации по программе подготовки научно-педагогических кадров в аспирантуре)

Профиль подготовки (специализация) 06.02.02 Ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология

Квалификация (степень) выпускника Исследователь. Преподаватель - исследователь

Форма обучения очная

СОДЕРЖАНИЕ

1.	Организация самостоятельной работы	3
2.	Методические рекомендации по самостоятельному изучению вопросов	4
3.	Методические рекомендации по подготовке к занятиям	7
3.1.	Лабораторная работа №1 Правила работы с вирусами. Устройство вирусологической лаборатории	7
3.2.	Лабораторная работа № 2 Правила получения и транспортировки вируссодержащего материала. Методы консервирования	7
3.3.	Лабораторная работа № 3 Действие на вирусы физических и химических факторов.	7
3.4.	Лабораторная работа № 4 Методы диагностики вирусных болезней. Индикация вирусов в патматериале путем обнаружения вирионов и телец-включений	8
3.5.	Лабораторная работа № 5 Культивирование вирусов в биосистемах	8
3.6.	Лабораторная работа № 6 Титрование вирусов.	8
3.7.	Лабораторная работа № 7 Методы индикации вирусов в объектах окружающей среды	8
3.8.	Лабораторная работа № 8 Серологические реакции в вирусологии: РН, РТГА	9
3.9.	Лабораторная работа № 10 Молекулярно-генетические методы диагностики вирусных болезней: принцип ПЦР, возможности, достоинства и недостатки	9

1. ОРГАНИЗАЦИЯ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ

1.1. Организационно-методические данные дисциплины

№ п.п.	Наименование темы	Общий объем часов по видам самостоятельной работы (из табл. 5.1 РПД)				
		подготовка курсового проекта (работы)	подготовка реферата/эссе	индивидуальные домашние задания (ИДЗ)	самостоятельное изучение вопросов (СИВ)	подготовка к занятиям (ПкЗ)
1	2	3	4	5	6	7
1	Тема 1 Введение в вирусологию	-	-	-	4	-
	Тема 2 Правила работы с вирусами. Устройство вирусологической лаборатории	-	-	-	4	-
2	Тема 3 Правила получения и транспортировки вирусосодержащего материала. Методы консервирования	-	-	-	5	2
3	Тема 4 Физическая структура и химический состав вирусов	-	-	-	5	-
4	Тема 5 Действие на вирусы физических и химических факторов	-	-	-	4	2
5	Тема 6 Методы диагностики вирусных болезней. Индикация вирусов в патологическом материале путем обнаружения телец-включений	-	-	-	5	2
6	Тема 7 Репродукция вирусов	-	-	-	6	-
7	Тема 8 Культивирование вирусов в биосистемах	-	-	-	5	4
8	Тема 9 Титрование вирусов	-	-	-	5	2
9	Тема 10 Методы индикации вирусов в объектах окружающей среды	-	-	-	5	2
10	Тема 11 Патогенез вирусных инфекций	-	-	-	6	-

11	Тема 12 Иммунитет и профилактика при вирусных инфекциях	-	-	-	6	-
12	Тема 13 Принципы систематики вирусов. Характеристика основных ДНК-содержащих вирусов	-	-	-	5	-
13	Тема 14 Характеристика основных РНК-содержащих вирусов	-	-	-	5	-
14	Тема 15 Бактериофаги	-	-	-	5	-
15	Тема 16 Серологические реакции в вирусологии	-	-	-	4	2
16	Тема 17 Молекулярно-генетические методы диагностики вирусных болезней	-	-	-	5	4

2. МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО САМОСТОЯТЕЛЬНОМУ ИЗУЧЕНИЮ ВОПРОСОВ

2.1 Происхождение вирусов. Место вирусов в биосфере. Их распространение в природе. Вирусоподобные структуры плазмиды, прионы, вирионы

При изучении этого вопроса следует обратить внимание на основные гипотезы о происхождении вирусов: эндогенная, протобионтов, регрессивная. Место вирусов в биосфере, способность сохраняться и распространяться в окружающей среде. Необходимо обратить внимание на следующие особенности: строения вирионов, плазмид, прионов. Роль вирионов и прионов в развитии болезней. Типы плазмид, их значение. Характеристика прионных инфекций, механизм развития заболевания.

2.2. Правила хранения и обеззараживания вирусосодержащего материала

При подготовке данного вопроса следует обратить внимание на устойчивость вирусов к физическим и химическим воздействиям, правила хранения вирусов, правила ведения журналов учёта движения штаммов, выделения вирусов и их идентификации, утилизации вирусов.

2.3. Особенности получения разных видов патологического материала от больных и трупов, особенности консервирования и сохранность вирусов

При самостоятельном изучении этого вопроса следует обратить внимание на методику получения крови и сыворотки крови от разных видов животных, выделений из носа, глаз, половых путей, содержимого папул, пустул, везикул, пораженных

паренхиматозных органов, на способы консервирования вирусосодержащего материала, а также на повышение сохранности вируса в вирусосодержащей суспензии.

2.4. Формы вирусных РНК и ДНК, особенности строения вирусов со сложным капсидом, химический состав сложноорганизованных вирусов

При подготовке этого вопроса следует рассмотреть все формы вирусных РНК – однонитевые: линейные, фрагментированные, кольцевые, двунитевые: фрагментированные, ДНК – однонитевые: линейные, кольцевые, двунитевые: линейные, с однонитчатым участком, с замкнутыми концами, кольцевые сверхспирализованные. Кроме того обратить внимание на строение вирусов со сложным капсидом: аденовирусы, поксвирусы, бактериофаги, учитывать изменения химического состава пантропных сложноорганизованных вирусов.

2.5. Механизм действия излучений, кислот, щелочей, детергентов

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на следующие особенности: устойчивость разных групп вирусов к воздействию физических и химических факторов, за счёт наличия суперкапсидной оболочки, особенностей строения, размеров генома и плотности упаковки нуклеиновой кислоты в капсид.

2.6. Особенности обнаружения вируса и его выделение из патологического материала. Доказательство этиологической роли вируса в развитии болезни. Методики обнаружения телец-включений

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на следующие особенности: методы экспресс диагностики их значение для раннего обнаружения вируса или вирусных антигенов в патологическом материале, использование лабораторных животных. куриных эмбрионов, культур клеток для выделения и обнаружения вируса, правила взятия и исследования парных сывороток при проведении ретроспективной диагностики. Ознакомится с методикой доказательства этиологической роли вируса в развитии болезни, методикой окраски препаратов с целью обнаружения телец включений при бешенстве. ИЛТ, ИРТ, ИБ, болезни Рубарта, оспе и других вирусных болезнях.

2.7. Генетические и негенетические взаимодействия вирусов

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на следующие особенности: строение генома вирусов, особенности однонитевых ДНК и двунитевых РНК геномов; виды генетических взаимодействий между вирусами: рекомбинация, реассортация, гетерозиготность, множественная реактивация, кросс-реактивация; виды негенетических взаимодействий: комплементация, фенотипическое смешивание, негенетическая реактивация.

2.8. Характеристики и особенности получения перевиваемых, диплоидных культур клеток, методы индикации вирусов в чувствительных биосистемах

При изучении данного вопроса следует обратить внимание на следующие особенности: требования, предъявляемые к лабораторным животным, цели их использования, методика заражения и вскрытия, признаки присутствия вирусов в организме зараженных животных., требования, предъявляемые к куриным эмбрионам, цель их заражения, способы заражения и методика вскрытия, правила отбора патологического материала от зараженных эмбрионов с целью выделения вируса,

признаки присутствия вируса в куринном эмбрионе, способы получения разных типов культур клеток, характеристика, преимущества и недостатки первично-трипсинизированных, субкультур, диплоидных и перевиваемых культур клеток, признаки присутствия вируса в культуре клеток, в том числе прямыми и косвенными методами.

2.9. Определение титра вируса в реакции нейтрализации

При самостоятельном изучении данного вопроса необходимо обратить внимание на методики определения титра вируса в единицах локальных повреждений, единицах 50% действия в реакции нейтрализации, использование тест-объектов для постановки реакции нейтрализации, оценка результатов и расчет титра по формуле Кербера и Рида и Менча.

2.10. Методы обнаружения вирусов в воде, почве, воздухе

При изучении этого вопроса следует обратить внимание на методы отбора проб вирусосодержащего материала и методику подготовки его к исследованию, обнаружение вирусов и их идентификация различными методами в том числе молекулярно-генетическими.

2.11. Механизмы персистенции вирусов

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на следующие особенности на условия формирования персистентных инфекций и механизм формирования персистентных инфекций. Ограничение цитолитического эффекта вируса на инфицированную клетку. Поддержание вирусного генома в клетке. Снижение или отсутствие иммунного ответа на вирусную инфекцию.

2.12. Неспецифические и специфические факторы иммунитета, средства профилактики и их характеристика

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на следующие особенности: факторы обеспечивающие неспецифический иммунитет: гуморальные: ингибиторы, интерферон, комплемент; клеточные факторы неспецифического иммунитета: макрофаги, натуральные киллерные клетки; факторы адаптивного иммунитета: иммуноглобулины, цитотоксические Т-лимфоциты; профилактика вирусных инфекций – вакцины живые, инаktivированные, субъединичные, генно-инженерные.

2.13. Характеристика ДНК-содержащих онкогенных вирусов (парво-папиллома- полиома- вирусов)

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на следующие особенности: способность вирусов семейства *Parvoviridae*, вызывать трансформацию клеток; способность вирусов семейства *Papillomaviridae* к онкогенной активности; возможность вызывать трансформацию клеток вирусами семейства *Polyimaviridae*.

2.14. Характеристика РНК-содержащих онкогенных вирусов (ретровирусы)

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на следующие особенности: наличие у вирусов семейства *Retroviridae* генов, обладающих трансформирующей активностью, особенности реализации генетической информации.

2.15 Особенности строения разных бактериофагов, репродукция умеренных бактериофагов

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на следующие особенности строения простоорганизованных и сложноорганизованных бактериофагов, особенности репродукции умеренных бактериофагов.

2.16. Особенности постановки РТГА, РНГА, ИФА, РДП, РИФ

При подготовке данного вопроса необходимо обратить внимание методику подготовки компонентов для постановки РТГА, методика получения эритроцитарного диагностикума для постановки РНГА, методики постановки гистохимического и твердофазного ИФА, техника приготовления агарового геля и методика постановки РРИД, постановки и учет прямого и непрямого РИФ.

2.17. Методика получения ДНК-зонда и его применение для детекции продуктов амплификации

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на следующие особенности: получение ДНК-зонда и его мечение; применение ДНК-зонда для идентификации генома вируса в патологическом материале; применение ДНК-зонда для детекции продуктов амплификации.

3. МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ПОДГОТОВКЕ К ЗАНЯТИЯМ

3.1 Лабораторная работа №1 Правила работы с вирусами. Устройство вирусологической лаборатории.

При подготовке к занятию необходимо обратить внимание на следующие моменты:

1. Правила работы с вирусами и вирусосодержащим материалом.
2. Спецодежда.
3. Подготовка рабочего места и дезинфекция по окончании работы.
4. Требования к устройству лаборатории, обеспеченность оборудованием, необходимые помещения.

3.2 Лабораторная работа №2 Правила получения и транспортировки вирусосодержащего материала. Методы консервирования.

При подготовке к занятию необходимо обратить внимание на следующие моменты:

1. Правила взятия патологического материала от больных животных, использование инструментов для взятия секретов, экскретов и раневого выделения.
2. На методику подготовки к исследованию различных видов материала, приготовление суспензии, режим центрифугирования, обработка антибиотиками.
3. Методику проведения бактериологического контроля.
4. Правила ведения журналов учёта поступившего материала, его использования и утилизации.

3.3 Лабораторная работа №3 Действие на вирусы физических и химических факторов.

При подготовке к занятию необходимо обратить внимание на следующие моменты:

1. Механизм действия кислот, щелочей, детергентов.

2. Влияние высоких и низких температур, ультрафиолетового, инфракрасного, γ -лучей, рентгеновского излучения.

3.4. Лабораторная работа № 4 Методы диагностики вирусных болезней. Индикация вирусов в патматериале путем обнаружения вирионов и телец-включений.

При подготовки к занятию необходимо обратить внимание на следующие моменты:

1. Методы быстрого обнаружения вирусов в патологическом материале путем электронной, люминисцентной микроскопии.
2. На сроки проведения исследований.
3. Обоснования исследования парных сывороток.
4. Преимущества ретроспективной диагностики.
5. Состав реактивов используемых при серебрении по Морозову.
6. Методику окраски телец-включений при разных вирусных болезнях.
7. Критерии, по которым классифицируют тельца-включения

3.5 Лабораторная работа № 5 Культивирование вирусов в объектах.

При подготовки к занятию необходимо обратить внимание на следующие моменты:

1. Особенности содержания животных разных видов: кроликов, хомячков, морских свинок, белых крыс, белых мышей.
2. Особенности интрацеребрального способа заражения мышей, крыс, кроликов.
3. Правильность внутрикожного, подкожного, интраперитонеального метода заражения.
4. Методика заражения в амниотическую полость, на ХАО. открытым и закрытым способами.
5. Особенности отбора вируссодержащего материала из полостей куриного эмбриона.
6. Признаки присутствия вируса в организме куриного эмбриона после заражения.
7. Свойства первичных, субкультур, перевиваемых и диплоидных культур клеток.
8. Условия позволяющие получить первичную культуру клеток.
9. Питательные среды, используемые для культивирования культур клеток и их характеристики
10. Прямые и косвенные признаки присутствия вируса в культуре клеток.
11. Механизм симпластообразования.
12. Требования к агаровому покрытию, используемому при постановке метода бляшек.

3.6 Лабораторная работа № 6 Титрование вирусов.

При подготовки к занятию необходимо обратить внимание на следующие моменты:

1. Единицы определения титра вируса: единицы локальных повреждений, единицы 50% действия, гемагглютинирующие единицы.
2. Расчёт титра вируса в ООЕ, БОЕ, ГАЕ.
3. определение титра вируса по Керберу, Риду и Менчу.

3.7 Лабораторная работа №7 Методы индикации вирусов в объектах окружающей среды

При подготовки к занятию необходимо обратить внимание на следующие моменты:

1. Вирусы в воздухе, способы отбора проб, концентрирования, индикации и идентификации вирусов.
2. Вирусы в открытых водоемах, правила взятия проб, методы обнаружения и идентификации вирусов.
3. Вирусы в почве, методика отбора проб для проведения лабораторных исследований с целью выявления, идентификации и титрования вирусов.

3.8 Лабораторная работа №18 Серологические реакции в вирусологии: РН, РТГА.

При подготовке к занятию необходимо обратить внимание на следующие моменты.

1. Принцип постановки серологических реакций.
2. Достоинства и недостатки применения серологических реакций в вирусологии.
3. Возможные варианты постановки РН.
4. Возможные проявления РН в тест-объектах – куриных эмбрионах, лабораторных животных, культуре клеток.
5. Принцип постановки РТГА.
6. Компоненты РТГА, подготовка их к реакции.
7. Оценка результатов РТГА.

3.9 Лабораторная работа № 9 Серологические реакции в вирусологии: РДП, МФА.

При подготовке к занятию необходимо обратить внимание на следующие моменты:

1. Подготовка компонентов РДП.
2. Варианты постановки РДП, особенность постановки реакции радиальной иммунодиффузии.
3. Сущность постановки прямого и непрямого МФА.
4. Подготовка антивидового конъюгата.
5. Оценка результатов реакции иммунофлюоресценции.

3.10 Лабораторная работа № 10 Молекулярно-генетические методы диагностики вирусных болезней: принцип ПЦР, возможности, достоинства и недостатки цепная реакция, её использование в вирусологии

При подготовке к занятию необходимо обратить внимание на следующие моменты:

1. Принцип постановки полимеразной цепной реакции.
2. Этапы ПЦР.
3. Компоненты ПЦР, требования к ним и подготовка компонентов к реакции
4. Детекция продуктов амплификации.